

Trelief® Bacteria Genomic DNA Kit

细菌基因组DNA提取试剂盒

■ 目录号

TSP701-50

■ 产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲液系统配合特异性吸附DNA的离心柱，能够快速高效提取各种革兰氏阴性/阳性菌的基因组DNA，并最大限度的去除杂质蛋白及细胞中其他代谢物质。本试剂盒无需使用酚/氯仿抽提，无需进行耗时的异丙醇或乙醇沉淀过程，操作安全。使用本试剂盒获得的基因组DNA完整性好、纯度高，可直接用于PCR、酶切和杂交等实验。

■ 产品组成

组分	TSP701-50 (50次)	保存条件及稳定性
RNase A (100 mg/mL)	250 μL	-25~-15°C保存1年
Buffer GA	15 mL	15~25°C保存1年
Buffer GB	15 mL	15~25°C保存1年

01

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

Wash Buffer A	13 mL	15~25°C保存1年，加入无水乙醇后可储存6个月
Wash Buffer B	15 mL	15~25°C保存1年，加入无水乙醇后可储存6个月
TE Buffer	5 mL	15~25°C保存1年
Proteinase K (20 mg/mL)	1 mL	-25~-15°C保存1年
Spin Columns T2 (吸附柱)	50个	15~25°C保存1年
Collection Tubes (2 mL收集管)	50个	15~25°C保存1年

■ 产品应用

本品适用于 $<1.0 \times 10^9$ 个革兰氏阴性/阳性菌的基因组DNA提取。

■ 产品特点

- 简单快速: 1 h内即可获得高纯度的基因组DNA;
- 应用广泛: 适用于多种革兰氏阴性/阳性菌;
- 超纯: 获得的DNA纯度高、完整性好, 可直接用于各种分子生物学实验。

■ 注意事项及准备

- 使用前检查Buffer GA及Buffer GB是否有沉淀析出, 若有沉淀析出, 可在37°C水浴溶解, 摇匀后使用;
- 首次使用试剂盒前, 在Wash Buffer A中加入17 mL无水乙醇(自备), Wash Buffer B中加入60 mL无水乙醇(自备), 混匀后方可使用;

02

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

- 避免试剂长时间暴露于空气中发生乙醇挥发、氧化等现象, 请使用后及时盖紧盖子;
- 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。样品处理量不要超过试剂盒兼容量, 否则可能导致样品裂解不充分而影响提取效果;
- 所有操作步骤均在室温(15~25°C)下进行;
- 为了您的安全和健康, 请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

■ 操作步骤(实验前请先阅读注意事项)

• 自备材料

Lysozyme (革兰氏阳性菌)、台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴、无水乙醇、1.5 mL离心管等。

1. 样品准备

1.1 革兰氏阴性菌

- 1) 取细菌培养物1~5 mL (不超过 1×10^9 个细胞) 置于离心管中, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min, 尽量吸净上清。
- 2) 加入200 μL Buffer GA, 振荡至菌体彻底悬浮。
- 3) (可选) 若RNA残留对后续实验影响较大, 可加入5 μL RNase A, 振荡15 s, 室温放置5~15 min。

- 4) 向管中加入20 μL Proteinase K溶液, 混匀。

1.2 革兰氏阳性菌

- 1) 取细菌培养物1~5 mL (不超过 1×10^9 个细胞) 置于离心管中, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min, 尽量吸净上清。

03

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

2)加入180 μL Lysozyme (自备), 振荡至菌体彻底悬浮, 37°C孵育30 min。

注1: Lysozyme干粉需在溶菌酶缓冲液中配制, 其工作浓度为20 mg/mL。溶菌酶缓冲液配制方法为: 20 mM Tris, pH8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2 % Triton X-100。

注2: 若某些细菌的细胞壁较厚, 需延长37°C孵育时间。

3) (可选) 若RNA残留对后续实验影响较大, 可加入5 μL RNase A, 振荡15 s, 室温放置5~15 min。

4)向管中加入20 μL Proteinase K溶液, 混匀。

2. 加入220 μL Buffer GB, 振荡混匀, 56°C孵育10~15 min。

注: 此时溶液应变清亮, 若此时溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 可能会导致DNA的得率及纯度降低。

3. 加入220 μL无水乙醇 (自备), 振荡混匀, 此时可能会出现絮状沉淀。

4. 将上一步所得混合溶液转移至已装入收集管的吸附柱中, 12,000 rpm (~13,400×g)离心1 min, 倒废液, 将吸附柱放回收集管中。

5. 加入500 μL Wash Buffer A (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm (~13,400×g)离心1 min, 弃废液。

6. 加入600 μL Wash Buffer B (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm (~13,400×g)离心1 min, 弃废液。

7. 重复操作步骤6。

8. 将吸附柱放回收集管中, 12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min, 倒掉废液, 将吸附柱开盖置于室温数分钟, 以充分晾干。

注: 需充分挥发漂洗液中的乙醇, 乙醇残留会影响后续的酶反应。

9. 取出吸附柱, 放入一个干净的1.5 mL离心管中, 在吸附膜的中央悬空滴加50~100 μL TE Buffer或灭菌水 (65°C预热后洗脱效果更佳), 室温放置2~5 min, 12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min。如果需增加基因组DNA的得率, 可将离心得到的溶液重新加入吸附柱中, 室温放置2 min, 12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min。

注: 洗脱体积越大, 洗脱得率越高。若需得到较高浓度的DNA, 可以适当减少洗脱体积, 但最小体积应不少于50 μL, 体积过小会降低DNA洗脱得率, 降低产量。

■ 保存条件

保质期1年, 试剂盒各组分储存条件见产品组成。

■ 技术支持

本产品使用过程中如有任何疑问与建议, 欢迎随时与我们联系: product@tsingke.com.cn。

